

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 21 日現在

機関番号：10105

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05962

研究課題名(和文) バレイショにおける2倍体F1育種に向けた基礎研究

研究課題名(英文) Basic researches toward diploid F1 breeding in potato

研究代表者

保坂 和良 (Hosaka, Kazuyoshi)

帯広畜産大学・その他部局等・特任教授

研究者番号：60222428

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：2倍体バレイショは自家不和合性を示すが、Sli遺伝子を導入すると自殖が可能となる。本研究ではさらに自殖を続け、稔性の低下や生育遅延などの近交弱勢が顕著となるが、ほぼ100%のホモ接合体(純系)を作ることができた。このような純系間のF1雑種では、地上部生育量や稔性において顕著な雑種強勢が見られるものの、イモ収量に関しては、*Solanum tuberosum*半数体とその雑種系統に高い収量が見られた。したがって、バレイショにおける2倍体F1育種は、雑種強勢と*S. tuberosum*由来の高収量性遺伝子を兼ね備えることにより実用レベルの収量性と均一性が達成されるものと期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、Sli遺伝子を使うことにより2倍体バレイショでのF1育種を可能とし、従来品種並みの収量も期待できることを示唆した。2倍体を用いることにより、遺伝分析が容易となり計画的育種が可能となることから育種年限の短縮につながる。また、種イモで栽培する従来農法から、真正種子で栽培する農法へと転換すると、種イモの生産・貯蔵・流通におけるコストを大きく下げその経済効果は計り知れないものがある。

研究成果の概要(英文)：The Sli gene functions to break self-incompatibility system and to induce self-compatibility in diploid potatoes. In this study, we continued selfing and finally identified a highly homozygous diploid potato (pure line) among tenth-generation selfed progeny. The S10 plants suffered severe inbreeding depression in terms of fertility and vigor, showing a small number of mature flowers and extremely slow growth. In F1 hybrids between pure lines showed remarkable hybrid vigor in above-ground growth and fertility. However, in terms of tuber yield, haploid *Solanum tuberosum* and its hybrids were superior to the hybrids between pure lines. Therefore, a pure line-based heterotic effect, combined with *S. tuberosum*-derived high yielding ability, would result in agronomically acceptable levels of genetic uniformity and tuber yield, leading to successful inbred-based F1 hybrid breeding of potato.

研究分野：バレイショ遺伝資源開発学

キーワード：バレイショ 2倍体F1育種 Sli遺伝子 雑種強勢 近交弱勢 純系

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

バレイショはヘテロ接合性の高い同質 4 倍体であり、栄養繁殖 (イモ) でその遺伝的特性は維持される。祖先栽培 2 倍種や近縁野生 2 倍種も配偶体型自家不和合性を示すため、他家受精により高いヘテロ接合性が維持されている。このためバレイショの品種改良は、品種や系統間交配によって得られる雑種個体群から優れたものを選び出し新品種とし、イモでこれを増やしてきた。1998 年に我々は自家不和合性阻害遺伝子 (*Sli*) を発見した。*Sli* 遺伝子を利用して 2 倍体自殖系統を作出することができれば、自殖系統間で交配すると、遺伝的に均一な F<sub>1</sub> 品種を育成できることから、欧米ではバレイショ育種の革命的技術としてもてはやされている。

2. 研究の目的

バレイショは 4 倍体であるがゆえに、多くの劣性致死遺伝子や有害遺伝子をヘテロ接合型として隠し持っていると考えられる。また、4 本の相同染色体間で高次の相互作用が働き、高い雑種強勢が生じて高収量が得られていると考えられている。

そこで本研究では、2 倍体バレイショを対象とした時、

- (1) 自殖により劣性致死遺伝子や有害遺伝子が発現されるので、果たして自殖世代を重ねることが出来るのか？さらに 100% ホモ接合性系統が作れるのか？
- (2) 4 倍体品種並みの収量を 2 倍体品種で得られるのだろうか？

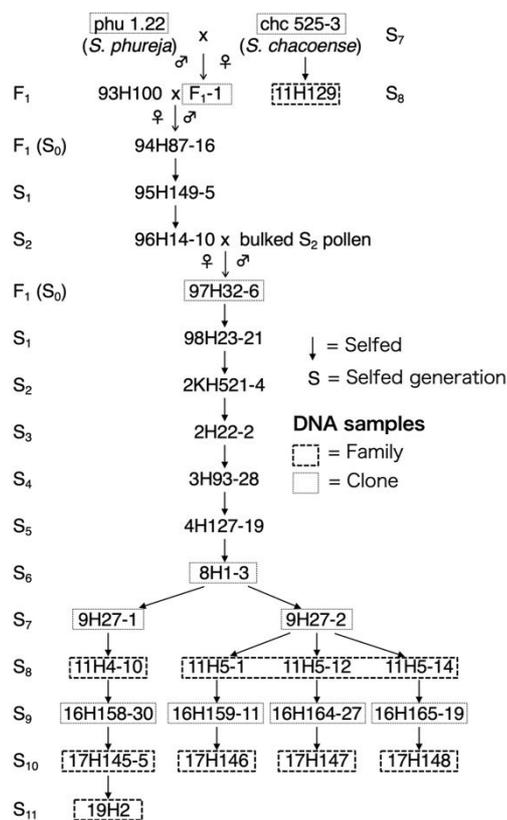
本研究はこの 2 点を明らかにすることを目的として行われ、バレイショにおける 2 倍体 F<sub>1</sub> 育種が成り立つのかどうかを検討した。

3. 研究の方法

(1) 我々は、*Sli* 遺伝子ホモ接合性系統である 97H32-6 (自殖 0 世代系統、以下 S<sub>0</sub> と表記する) から自殖を繰り返し、自殖第 10 世代植物 (以下、S<sub>10</sub> と表記する) を育成してその表現型を調査した (第 1 図)。さらに、自殖第 11 世代植物および野生 2 倍種 *S. chacoense* の自殖第 8 世代集団 (以下、C と表記する) を加え、ゲノム全体を網羅する 18579 の一塩基多型 (SNP) を用いて、自殖過程におけるヘテロ接合性の変化を明らかにし、残存するヘテロ接合性領域が系統特異的なものかどうか調査した。

(2) 本研究に用いた植物材料を第 1 表に示した。以下、系統名・系統群名はコード名で表記する。1) ホモ接合性が高い S<sub>10</sub>、C-a、C-b、および栽培 2 倍種 *S. phureja* の薬培養経路で作出された倍加半数体 (DM)、2) ヘテロ接合性の高い S<sub>0</sub>、普通品種の 2 倍性半数体 2 系統 (T1 と T2) および 3) これらより 22 の雑種系統群を育成した。まず 2019 年には、17 雑種系統群の実生を育成しイモ収量を調査した。収穫したイモを種イモとして、2020 年に

圃場で、系統群あたり 5~10 系統 (= 個体) のイモを 1 試験区とし 3 反復で栽培した。植え付け後出芽までの日数、第 1 花開花までの日数、およびイモ収量を調査した。圃場試験に並行して新たに 5 雑種系統群と C-a および C-b の実生集団を育成し、圃場試験で用いた系統と併せてポット (10.5 cm 径) 栽培しイモ収量を調査した。収穫したイモを種イモとして、2021 年では系統群当たり 2~8 株を 1 試験区として 4 試験区でポット (21 cm 径) 栽培をした。出芽までの日数、出芽後第 1 花開花までの日数を記録し、開花したものは花粉染色率を調査した。2 試験区については出芽後 55 日目まで収穫し、地上部新鮮重、花房数、イモ数、およびイモ収量をポットごとに調査した。残りの 2 試験区は出芽後枯凋期までの日数、ないし枯凋期を迎えないものは 110 日目



第1図 供試系統

で、地上部乾燥重、花房数、着果数、イモ数、およびイモ収量をポットごとに調査した。

第1表 供試材料

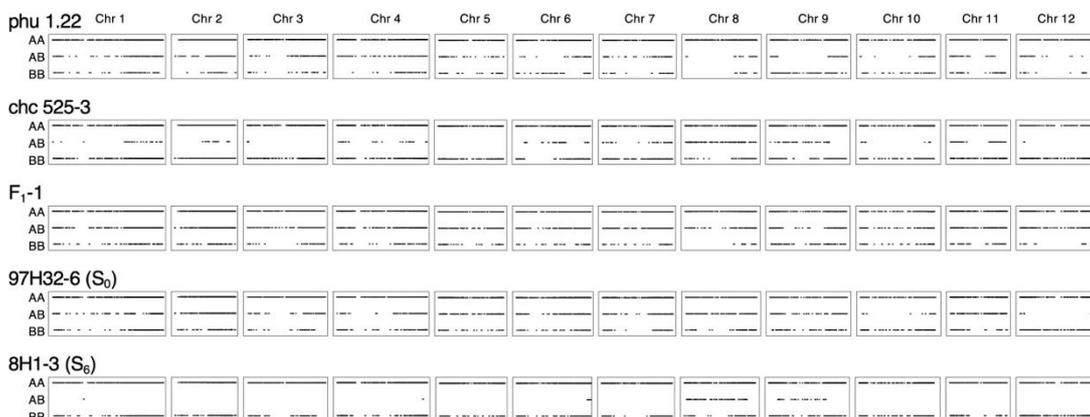
識別コード	系統名 <sup>1)</sup>	系譜	供試系統・個体数 <sup>2)</sup>			
			A	B	C	D
C-a	20H26*	18H259-5 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> ) self			26	11
C-b	20H27*	18H260-6 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> ) self			30	10
T1	96H1	Atlantic 半数体				4
T2	98H20-5	コナフブキ半数体				8
S0	97H32-6	S <sub>0</sub>				12
DM	DM	DM 1-3 516 R44				11
S10	17H145-5	S <sub>10</sub>				12
T1×S0	19H102*	Atlantic 半数体 × 97H32-6 (S <sub>0</sub> )	30	28	28	12
T2×S0	19H103*	コナフブキ半数体 × 97H32-6 (S <sub>0</sub> )	15	13	74	12
DM×S0	19H104*	DM × 97H32-6 (S <sub>0</sub> )	30	28	30	11
S0×S10-a	19H112*	97H32-6 (S <sub>0</sub> ) × 17H145-3 (S <sub>10</sub> )	15	12	45	23
S0×S10-b	20H20*	17H145-3 (S <sub>10</sub> ) × 97H32-6 (S <sub>0</sub> )			21	12
S0×S10-c	20H21*	17H146-7 (S <sub>10</sub> ) × 97H32-6 (S <sub>0</sub> )			26	12
S0×C	19H113*	97H32-6 (S <sub>0</sub> ) × 18H260-1 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> )	37	30	30	12
C×S0-a	19H114*	18H259-8 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> ) × 97H32-6 (S <sub>0</sub> )	58	29	30	12
C×S0-b	19H115*	18H260-6 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> ) × 97H32-6 (S <sub>0</sub> )	59	29	30	12
C×S10-a	19H118*	18H260-1 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> ) × 17H145-3 (S <sub>10</sub> )	35	30	30	12
C×S10-b	19H119*	18H260-2 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> ) × 17H145-4 (S <sub>10</sub> )	25	16	25	12
C×S10-c	19H120*	18H260-6 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> ) × 17H145-4 (S <sub>10</sub> )	23	23	23	12
C×S10-d	19H121*	18H259-3 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> ) × 17H145-12 (S <sub>10</sub> )	30	30	30	12
C×S10-e	19H122*	18H259-5 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> ) × 17H145-12 (S <sub>10</sub> )	23	21	21	12
S10×C-a	20H22*	17H145-5 (S <sub>10</sub> ) × 18H259-4 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> )			27	12
S10×C-b	20H23*	17H145-3 (S <sub>10</sub> ) × 18H260-1 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> )			19	12
S10×C-c	20H24*	17H145-5 (S <sub>10</sub> ) × 18H260-7 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> )			12	12
DM×S10-a	19H105*	DM × 17H145-3 (S <sub>10</sub> )	15	15	45	24
DM×S10-b	19H106*	DM × 17H145-5 (S <sub>10</sub> )	60	29	30	12
DM×S10-c	19H107*	DM × 17H146-4 (S <sub>10</sub> )	60	30	30	12
DM×C-a	19H108*	DM × 18H258-7 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> )	59	30	30	12
DM×C-b	19H109*	DM × 18H260-1 ( <i>S<sub>9</sub> S. chacoense</i> )	59	30	30	12

1) 同一交配組み合わせに由来する複数個体は系統群と呼び、\*で示す。

2) 収量試験は4つの栽培環境下で実施した。A 実生を10.5 cm径ポットで栽培(2019年)、B 種イモを用いて圃場で栽培(2020年)、C 実生および種イモを10.5 cm径ポットで栽培(2020年)、D 種イモを用いて21 cm径ポットで栽培(2021年)

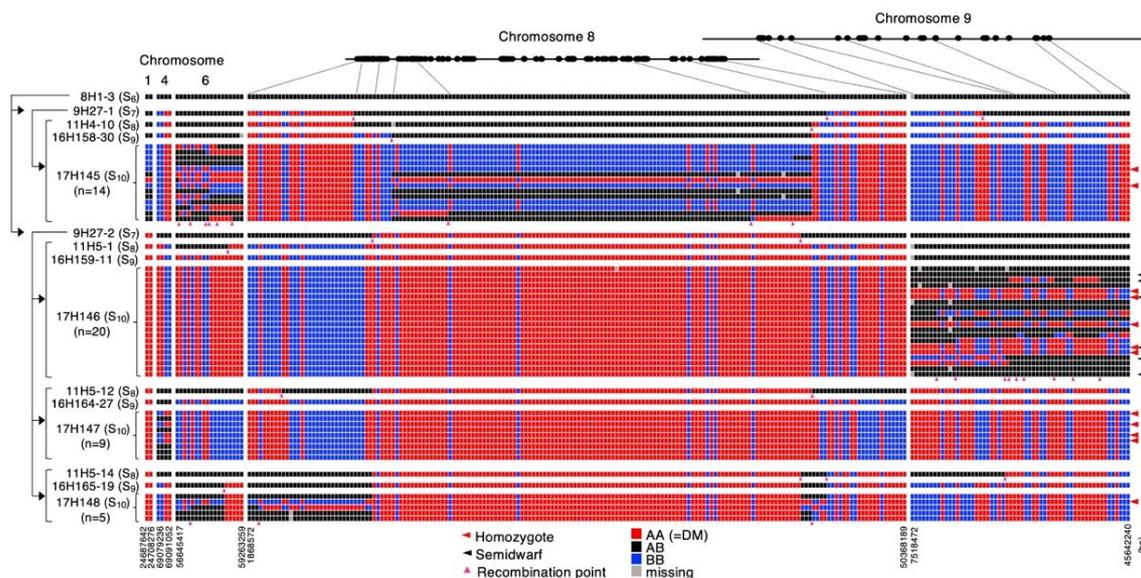
#### 4. 研究成果

(1) 自殖世代を進めるにつれ、近交弱勢として稔性と生育力の低下が顕著となり、自殖第10世代植物では、成熟した花数が少なく、極端な生育遅延が見られた。しかし、稔性やイモの生産力は自殖第11世代においても維持されていた。ヘテロ接合性を示すSNP座の数は減少してホモ接合性が高まり、自殖第6世代植物(8H1-3)では、第8および第9染色体を除くほとんどの染



第2図 ゲノム全体を網羅するSNP座における、親系統から自殖第6世代植物(8H1-3)までの遺伝的固定

染色体で AA ないし BB ホモ接合型に固定していた (第 2 図)。第 8 および第 9 染色体では染色体全域にわたって AB ヘテロ接合性が維持され、野生 2 倍種 *S. chacoense* の自殖第 7 世代系統 (chc 525-3) でも同様の傾向が見られた (第 2 図)。さらに自殖世代を進めると、自殖第 10 世代において 48 系統のうち 15 系統ですべての SNP 座でホモ接合型となっていた (第 3 図)。このうち 1 系統は自殖により種子が取れ、自殖第 11 世代 14 系統を育成した。これらの 19333 SNP 座を調査したが、全て同一で遺伝的分離は見られなかった。したがって、*Sli* 遺伝子を用いて自殖世代を重ねることにより、100%ホモ接合性系統を作出できることが明らかとなった。

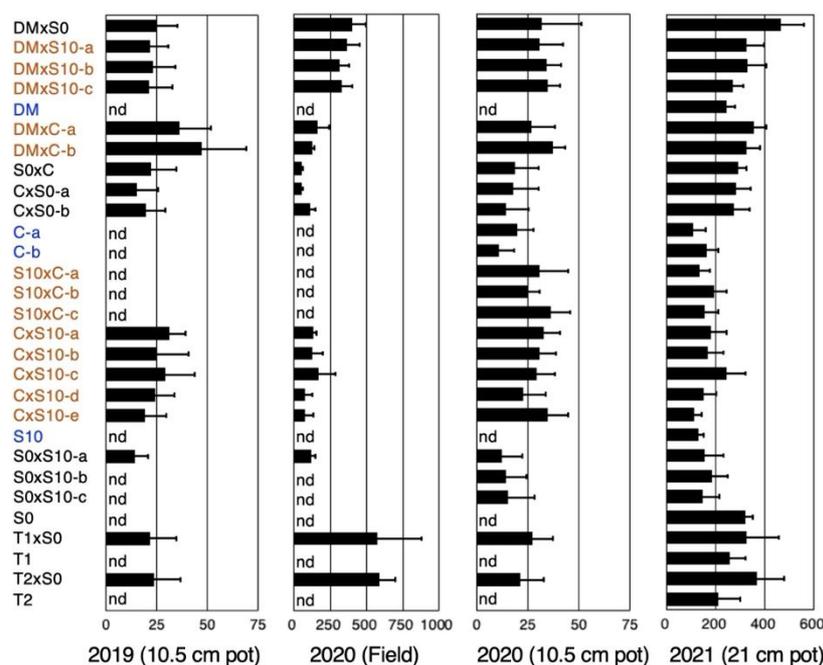


第3図 自殖第6世代植物 (8H1-3) でヘテロ接合性を示すSNP座がホモ接合化する過程。赤三角は100%ホモ接合性を示す系統であり、黒三角は半矮性系統を示す。

(2) 雑種系統のポット栽培及び圃場栽培における調査結果は以下のとおりであった。

2019 年の実生栽培においては、DM×C-b で収量が高く (第 4 図) 特 に DM×C-a と DM×C-b のイモ 1 個重は顕著に高かった。

2020 年春作での圃場試験では、ホモ接合性の高い系統間の雑種系統は、系統群内ではほぼ同時期に出芽して開花に至り、系統間で形態的ばらつきがなく、遺伝的均一性が確認できた。また、旺盛に地上部が繁茂し、明らかに雑種強勢が働いていることが確認できた。雑種系統はいずれも晩生化し、枯凋期を迎えることなく収穫せざるを得なかった。ストロンも畝間を跨いで旺盛に伸長してイモを形成したため、雑種系統の正確な収量調査



第4図 異なる条件下での個体当たり平均イモ収量 (g)

はできなかった。2 倍体系統の平均的ヘテロ接合性を示すと考えられる T1×S0 および T2×S0 系統群では、出芽がばらつき、草型や花色などに形態的変異が見られた。しかし、試験区ごとの平均収量は高く、T1×S0 の試験区 2 における個体当たり平均イモ収量は 926 g に達した。これは 4 倍体普通品種に匹敵する収量であった。

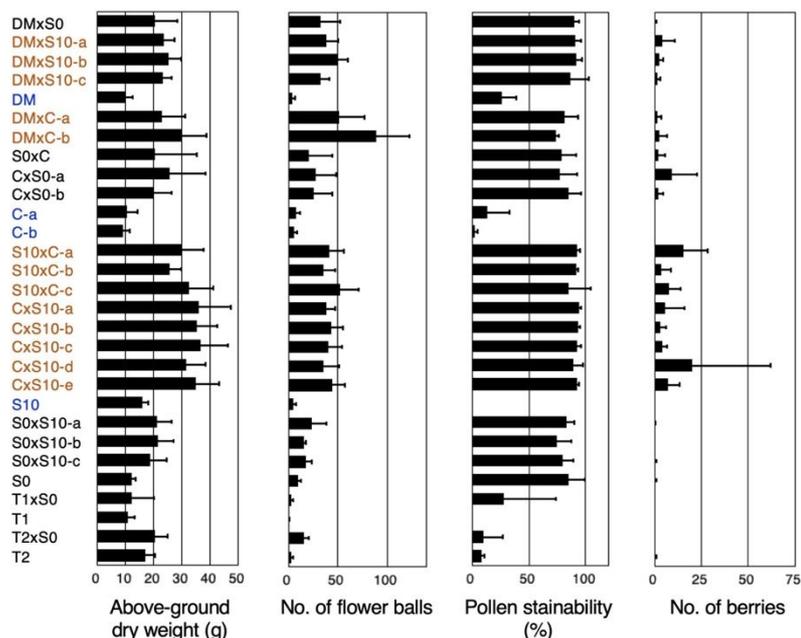
4 つの異なる栽培条件で供試した 17 雑種系統群について、栽培条件間の相関を個体当たり平均イモ収量で見たところ（第 2 表）、10.5 cm 径ポットで栽培した 2019 年と 2020 年の栽培には有意な正の相関が見られた ( $r=0.535$ 、 $P=0.027$ )。また、21 cm 径のポット栽培における出芽後 55 日目収穫と枯凋期ないし出芽後 110 日目収穫の相関 ( $r=0.736$ 、 $P<0.001$ ) 並びにこれらと圃場試験の間に有意な正の相関（それぞれ  $r=0.631$  および  $r=0.605$ 、 $p=0.007$  および  $p=0.010$ ）が見られたが、10.5 cm 径ポットとの間に相関は見られなかった。しかし、いずれの条件下でも T1×S0 および T2×S0 は比較的高い収量を示した（第 4 図）。

第 2 表 異なる栽培条件でのイモ収量の相関

栽培条件	A	B	C	D	E
A 10.5 cm 径ポット栽培 (2019 年)	1				
B 圃場栽培 (2020 年)	-0.0644	1			
C 10.5 cm 径ポット栽培 (2020 年)	0.5346*	0.1933	1		
D 21 cm 径ポット栽培 (55 日)	0.0277	0.6311**	-0.1104	1	
E 21 cm 径ポット栽培 (110 日)	0.2482	0.6054*	0.1019	0.7355***	1

\* $P<0.05$ 、\*\* $P<0.01$ 、\*\*\* $P<0.001$

21 cm 径ポット栽培では、ホモ接合性の高い親系統 (S10、C および DM) に比べ、これらの雑種系統は出芽および開花ともに早かったが、収穫までの日数は長く、地上部重は有意に高くなった。DM と C の花粉染色性は低く S10 は開花に至らなかったが、これらの雑種系統はいずれも花粉染色性が高く、花房数も有意に親系統を上回った。また、雑種系統にのみ自然着果が見られた（第 5 図）。出芽後 55 日目におけるイモ収量は、T1×S0、T2、および DM などの早生型系統で高く、収穫期ないし 110 日目で見ると、T1×S0、T2×S0 および DM×S0 などで収量が高くなった（第 4 図）。



第 5 図 ポット (21 cm) 栽培における収穫時の形質調査 (個体当たり平均)

(3) 以上の結果より、*Sli* 遺伝子の働きにより自殖を続けると稔性の低下や生育遅延などの近交弱勢が顕著となるが、ほぼ 100% のホモ接合体 (= 純系) を作ることは可能であることが証明された。このような純系間の F<sub>1</sub> 雑種では、地上部生育量や稔性において顕著な雑種強勢が見られるものの、イモ収量に関しては、S0、T1、および T2 などの特定系統とその雑種系統に高い収量が見られ、雑種強勢だけでなく、高収量をもたらす遺伝因子の存在が示唆された。本研究で用いた純系は、野生種 *S. chacoense* と栽培種 *S. phureja* から育成されたものである。一方、T1 および T2 は普通バレイショ *S. tuberosum* に由来するものであり、*S. tuberosum* に高収量性をもたらす遺伝因子が存在するものと類推される。したがって、バレイショにおける 2 倍体 F<sub>1</sub> 育種は、雑種強勢と *S. tuberosum* 由来の高収量性遺伝子を兼ね備えることにより実用レベルの収量性と均一性が達成されるものと期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hosaka Kazuyoshi、Sanetomo Rena	4. 巻 216
2. 論文標題 Creation of a highly homozygous diploid potato using the S locus inhibitor (Sli) gene	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Euphytica	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10681-020-02699-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	實友 玲奈  (Sanetomo Rena)  (20716378)	帯広畜産大学・その他部局等・准教授    (10105)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------